Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 3, Fall 2024, p. 509-521

The Effect of Plant Growth Promoting Bacteria in Hydroponics Cultivation Conditions on Iron Concentration, Yield and Phenolic Compounds of Lettuce

P. Molaei[1]*, F. Nekounam[2], M. BabaAkbari Sari[3]

1 and 2- M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: pmolaei@znu.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

Received: 14-05-2023 Revised: 06-09-2023 Accepted: 24-01-2024 Available Online: 27-01-2024	**How to cite this article:** Molaei, P., Nekounam, F., & BabaAkbari Sari, M. (2024). The effect of plant growth promoting bacteria in hydroponics cultivation conditions on iron concentration, yield and phenolic compounds of lettuce. *Journal of Horticultural Science, 38*(3), 509-521. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.82408.1266

Introduction

Over time, water deficit and environmental pollution by traditional agriculture that forces the producer to contribute to competitive and sustainable agriculture. Leafy vegetables are beneficial to human health, therefore, to adapt an eco-friendly approach in some vegetables, the partial substitution (25–50%) of mineral NPK by biofertilizers in lettuce improves the yield and agronomic features and produces healthy plants for human nutrition as well. Lettuce (*Lactuca sativa* L.) from Asteraceae family is considered as one of the most popular salad vegetables as a cool season crop. PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria) are rhizosphere bacteria that improve plant growth through a broad range of processes, i.e., phosphate solubilization, biological nitrogen fixation, siderophore manufacturing, phytohormone manufacturing, antifungal activity, systemic resistance induction and plant-microbe symbiosis promotion. The promoting of growth and yield of horticultural crops such as cucumber, potato, tomato and spinach by plant growth promoting bacteria inoculation at nutrient solutions under soilless systems have also been reported.

Material and Methods

In order to study the effect of growth-promoting bacteria on the yield, iron concentration and phenolic compounds of lettuce (*Lactuca sativa* cv. New Red Fire) under floating systems, the experiment was carried out in a completely randomized design with three replications in the Research greenhouse of University of Zanjan, during 2020. Experiment treatments consisted of five levels of PGPB (*Pseudomonas vancouverensis*, *Pseudomonas koreensis*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas* putida, and one level of combined bacteria (*Pantoea agglomerans*+ *Pseudomonas koreensis* + *Pseudomonas putida*+ *Pseudomonas vancouverensis*)) and control plant (without bacteria treated). Application of bacteria was done in two stages, one step before cultivation as seed inoculation and the next step as root inoculation. Lettuce plants grown in hydroculture condition with Hoagland nutrient solution. Growth conditions were environmentally controlled at a relative humidity of 60/70 % day/night and temperature was maintained between 20 and 17 °C. At 40 days after transplanting date, the lettuce head were harvested. The freshly harvested lettuce head were immediately weighed separately of each plant for fresh weight determination. Leaf samples were dried at 72 °C for 48 h in a drying oven and kept for further investigations. Also, leaf number per plant, chlorophyll and carotenoids contents, Fe concentration, total phenol, total flavonoids and anthocyanin contents were measured.

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.82408.1266

Results

The obtained results in the current study indicated that the application of PGPB on lettuce caused significant increase in growth, photosynthetic pigments and iron concentration. The maximum growth rate and photosynthetic pigments content was observed in combined four bacteria treatment, so that, an increase of 388.2% chlorophyll a, 439.8% chlorophyll b, 398.3% total chlorophyll, 246.3% carotenoids contents, 42.6% plant fresh weight and 22.2% number of leaves was obtained compared to control plants. Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) can enhance growth and development of plants. PGPB have direct and indirect influences on plant growth process. The immediate promotion of growth involves either supplying the plant with a compound produced by the bacteria, i.e., phytohormones, or promoting certain nutrient uptake from the setting. Whereas, the indirect plant growth promotion happens when PGPB decreases or prevents the deleterious impacts of one or more phytopathogenic species. Plants inoculated with PGPB showed higher leaf iron concentration compared to control plant. Thus inoculation with combined four bacteria induced a 26.2 % increase of lettuce leaves iron concentration. The obtained results in the current study revealed that the inoculation with PGPB significant decreased the total phenol, flavonoid and anthocyanin contents. The maximum content of phenol (483 µg g^{-1}FW), flavonoid (188.1 µg g^{-1}FW) and anthocyanin (27.5 µmol g^{-1}FW) were observed in control plants compared to treated plants.

Conclusion

According to the results of this research, the use of PGPB in the hydroculture system, on the one hand, led to a significant increase in iron absorption, the synthesis of photosynthetic pigments, and subsequently promote growth and increases lettuce yield. On the other hand, due to facilitating the growth conditions and increasing the absorption of nutrients for the host plants as a result of inoculation with PGPB, led to a decreases of phenolic compounds including total phenol, total flavonoid and anthocyanin contents.

Keywords: Anthocyanin, Hydroponics, Iron, PGPR, Phenolic compounds

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۳، پاییز ۱٤۰۳، ص. ۵۰۹-۵۲۱

اثر باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر غلظت آهن، عملکرد و ترکیبات فنولیک کاهو

پرستو مولائی[1*]- فاطمه نکونام[2]- محمد بابااکبری ساری[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۰۴

چکیده

یکی از مهمترین سبزی‌های برگ‌دار، کاهو (*Lactuca sativa* L.) است که مقصد تولید آن بـه بازارهـای بین‌المللـی و ملـی می‌باشـد. کـاهو از سبزی‌هایی است که در سیستم‌های کشت هیدروپونیک شناور، برای بهره‌وری بالاتر در استفاده از آب و کودها تولید می‌گردد. کاربرد باکتری‌های محرک رشد برای افزایش عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی در نظام‌های پایدار کشاورزی دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشد. بدین جهت، به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت، بر ویژگی‌های کیفی و عملکرد کـاهو رقـم ‘New Red Fire’، آزمایشـی به‌صـورت طـرح کـاملا تصادفی در سـه تکـرار انجـام شـد. تیمارهـای آزمایشـی شـامل پـنج سـطح از باکتری‌هـای محـرک رشـد (*Pseudomonas vancouverensis*، *Pseudomonas Koreensis*، *Pseudomonas putida*، *Pantoea agglomerans*، ترکیب چهار گونه باکتری) و تیمـار شـاهد بـدون تلقـیح باکتریایی بود. صفات مورد بررسی شامل وزن تر بوته، تعداد برگ، محتوای فنول کل و فلاونوئید کل، محتوای آنتوسیانین، غلظـت آهـن، کلروفیل‌هـا و کاروتنوئید کل بود. نتایج نشان داد، اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر صفات مورد بررسی معنی‌دار گردید. بیشـترین عملکـرد بیولوژیـک، محتـوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و غلظت آهن در برگ، با کاربرد تیمار باکتری ترکیبی مشاهده شد، به‌طوری‌که افزایش ۳۸۸/۲ درصد کلروفیل a، ۴۳۹/۸ درصـد کلروفیل b، ۳۹۸/۳ درصد کلروفیل کل، ۲۴۶/۳ درصد محتوای کاروتنوئید، ۲۶/۲ درصد غلظت آهن، ۴۲/۶ درصد وزن تر بوته و ۲۲/۲ درصد تعداد برگ نسبت به گیاهان شاهد حاصل شد. با این حال، کاربرد باکتری‌های محرک رشد در گیاه کاهو با تسهیل شرایط رشـد و افـزایش جـذب عناصـر غـذایی، موجب کاهش معنی‌دار سنتز ترکیبات فنولیک از جمله محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین در مقایسه با گیاهـان شـاهد، در شـرایط آبکشـت گردید. با توجه به اینکه بهترین تیمار این پژوهش در اغلب صفات مورد بررسی، کاربرد باکتری ترکیبی بود، برای دستیابی به حداکثر عملکـرد، افـزایش سودمندی کل و کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی، استفاده از باکتری ترکیبی توصیه می‌شود. البته اگر بتوان با اعمال راهکارهایی به‌صـورت همزمـان کیفیت تغذیه‌ای کاهو به‌ویژه محتوای ترکیبات فنولیکی و فلاونوئیدی گیاه را نیز در شرایط آبکشت افزایش داد، بسیار مطلوب‌تر خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، آهن، باکتری‌های محرک رشد گیاهی، ترکیبات فنولی، هیدروپونیک

مقدمه

امروزه در سراسر جهان، کشت بدون خاک سبزی‌ها در مناطق جغرافیایی مختلف رایج شده است. سیستم‌های هیدروپونیک نسبت به کشت خاکی دارای فوایدی از جمله، استفاده مجدد از آب و عناصر غذایی، کنترل مطلوب شرایط محیطی و پیشگیری از بیماری‌ها و آفات خاک‌زی می‌باشند (Lommen, 2007). کاربرد بیش از حد کودهای شیمیایی در کشاورزی، موجب افزایش خطرات زیست‌محیطی و آسیب به سلامت انسان، حیوانات، اکوسیستم، کاهش بهره‌وری کشاورزی و اختلال در تعادل اکوسیستم طبیعی گردیده است. امروزه جهت اجتناب از چنین بحران‌های زیست‌محیطی، تولید کودهای زیستی سازگار با محیط‌زیست با کارایی اقتصادی و سود بالاتر در مقایسه با کودهای شیمیایی مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته است. برای بهبود بهره‌وری کشاورزی و پایداری عملکرد، استفاده از باکتری‌های محرک رشد به‌عنوان کودهای زیستی، در مدیریت

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: pmolaei@znu.ac.ir)
۳- استادیار، گروه علوم و مهندسی خـاک، دانشـکده کشـاورزی، دانشـگاه زنجـان، زنجان، ایران

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.82408.1266

کشاورزی مدرن بسیار مهم می‌باشد (Zandi & Basu, 2016). کاربرد میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاهان (PGPR[1])، از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، انحلال عناصر غذایی، کنترل تنش‌های زیستی و غیرزیستی، سیستم انتقال آهن، رقابت با عوامل بیماری‌زا و تولید انواع هورمون‌های گیاهی، موجب ارتقای رشد و افزایش کیفیت در گیاهان میزبان می‌گردند (Lugtenberg & Kamilova, 2009). استگل‌مایر و همکاران (Stegelmeier *et al.*, 2022) گزارش کردند که باکتری‌های محرک رشد (PGPB) با کاهش تنش از طریق ACC دآمیناز، افزایش در دسترس بودن مواد مغذی از طریق حلالیت فسفر، سیدروفورها و تثبیت نیتروژن و همچنین کنترل زیستی بیماری‌های قارچی گیاهان در تولید هیدروپونیک، منجر به افزایش بیشتر عملکرد، پایداری محیطی و امنیت غذایی می‌شوند. علاوه بر این، راهی (Rahi, 2016) گزارش داد، باکتری‌های محرک رشد اثر مثبتی بر فعالیت فتوسنتزی، عملکرد گیاه، افزایش طول و رشد ریشه دارند. در میان باکتری‌های گرم منفی خاک، باکتری‌های *Pseudomonas* فراوان‌ترین جنس در ریزوسفر هستند. سویه‌های این جنس می‌توانند رشد گیاه را با تولید آنزیم‌ها، فیتوهورمون‌ها، سیدروفورها[2] و آنتی‌بیوتیک‌ها تقویت کنند (Esitken *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2015). گوپتا و همکاران (Gupta *et al.*, 2014) گزارش کردند، گونه‌های مختلف این جنس، توانایی تولید سیدروفور، فنازین، کیتیناز و پراکسیدازها را دارند. سیدروفورها از عوامل کلات‌کننده آهن و عامل انتقال آهن (III) به گیاه میزبان می‌باشند. انواع مختلفی از سیدروفورها در جنس‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد شناسایی و مورد مطالعه قرار گرفتند و ارتباط بین سنتز سیدروفورها با جذب آهن و تحریک رشد در باکتری‌های محرک رشد و گونه‌های مختلف گیاهان گزارش شده است (Sharma *et al.*, 2013; Cézard *et al.*, 2015; Cunrath *et al.*, 2015). آهن یکی از عناصر ریزمغذی و ضروری برای رشد گیاه می‌باشد که در سنتز کلروپلاست و فرآیندهای مختلف مانند فتوسنتز، تنفس و بیوسنتز کلروفیل نقش بسیار مهمی دارد، همچنین عنصر آهن جزء اصلی در سیستم احیاء سلولی محسوب می‌شود (Nagajyoti *et al.*, 2010; Kobayashi & Nishizawa, 2012). افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ از جمله کلروفیل توسط باکتری‌های محرک رشد علاوه بر توانایی افزایش جذب آهن، می‌تواند بر افزایش تثبیت نیتروژن و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و به تبع آن افزایش مقدار نیتروژن برگ‌ها نیز مؤثر باشد. علاوه بر این، افزایش غلظت کلروفیل با افزایش جذب نیتروژن رابطه مستقیمی دارد، چراکه نیتروژن نقش مهمی را در ساختمان کلروفیل ایفا می‌نماید (Mahfouz & Sharaf-Eldin, 2007). ریزوباکتری‌های محرک رشد در محیط‌کشت می‌توانند به‌صورت قارچ‌کش‌های بیولوژیکی و عوامل کنترل زیستی عمل نمایند (Singh *et al.*, 2011). دینگ و همکاران (Ding *et al.*, 2014) گزارش کردند، ترکیب جامعه باکتریایی در سیستم‌های کشت هیدروپونیک تحت تأثیر فعل و انفعالات گیاه میزبان قرار دارد. نقش این میکروارگانیسم‌ها در مدیریت کشاورزی پایدار بسیار مهم است.

کاهو با نام علمی *Lactuca sativa* L. مهم‌ترین سبزی سالادی، حاوی مقادیر فراوانی از فیبر، منگنز، فسفر، آهن، پتاسیم، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ویتامین‌های C، E و ترکیبات فنولی می‌باشد (Kim *et al.*, 2016). منزوکو و همکاران (Manzocco *et al.*, 2011) گزارش کردند، گیاهان کاهو در شرایط کشت هیدروپونیک نسبت به کشت خاکی دارای عملکرد و کیفیت بالاتری هستند. محققین بسیاری بهبود کیفیت و کمیت گیاهان، تحت تأثیر کاربرد باکتری‌های محرک رشد در هر دو سیستم کشت خاکی و هیدروپونیک را تأیید کرده‌اند (Lee *et al.*, 2010). افزایش وزن تر ریشه، اندام هوایی و عملکرد با کاربرد سویه‌های باکتری سودوموناس همراه با محلول‌های غذایی در شرایط کشت بدون خاک در گیاهان خیار، سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی و اسفناج (Yasufumi & Kaneaki, 2003) گزارش شد. با توجه به کمبود تحقیقات در این زمینه و تمرکز مطالعات گذشته بر تأثیر کودهای زیستی در شرایط کشت خاکی، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد، سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی، ترکیبات فنولیکی و غلظت آهن در گیاه کاهو رقم ‘New Red Fire’ در شرایط آبکشت انجام شد.

مواد و روش

مواد گیاهی و شرایط کشت

این آزمایش در پاییز سال ۱۳۹۹ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در قالب طرح کاملاً تصادفی بر روی گیاه کاهو رقم ‘New Red Fire’ در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح از باکتری‌های محرک رشد (*Pseudomonas vancouverensis*، *Pseudomonas putida*، *Pantoea agglomerans*، *Koreensis Pseudomonas*، ترکیب چهار گونه باکتری) و تیمار شاهد شامل گیاهان بدون تلقیح باکتریایی بودند. تیمارهای آزمایشی در ۶ مخزن جداگانه اعمال شدند. سوسپانسیون جدایه‌های خالص باکتری‌های مورد آزمایش با جمعیت

1- Plant growth promoting rhizobacteria
2- Siderophore

۱۰^۷ تا ۱۰^۸ ($CFU^{1}.g^{-1}$) از شرکت زیست‌فناور سبز در شهر تهران تهیه گردید. تلقیح باکتری‌ها در دو مرحله، یک مرحله قبل از کشت به‌صورت بذرمال و مرحله بعدی به‌صورت تلقیح ریشه انجام شد. برای این منظور ابتدا بذور با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به‌مدت یک دقیقه استریل سطحی شد، سپس به‌منظور حذف هیپوکلریت سدیم، بذرها با آب مقطر استریل ۱۰ بار شستشو شدند. پس از آن، بذرهای استریل شده به ارلن‌مایرهای حاوی سوسپانسیون جدایه‌های باکتریایی اضافه شدند و به‌مدت ۴۵ دقیقه بر روی شیکر با دور ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از طی زمان مذکور، بذور در شرایط استریل فراهم شده با استفاده از دستگاه هود لامینار، از داخل ارلن‌مایرها خارج و به‌منظور حذف رطوبت اضافی روی آلومینیوم فویل استریل پخش شدند. در مرحله بعد، هنگام انتقال گیاهچه‌ها به مخزن محلول غذایی، از سوسپانسیون باکتری‌ها به ناحیه ریشه هر گیاهچه محلول‌پاشی انجام شد. شرایط دمایی گلخانه در روز ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد و شب ۲±۱۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد در روز و ۶۰ درصد در شب بود. برخی خصوصیات آب مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است.

شرایط کشت

ابتدا بذور پیش تیمار شده و بدون پیش تیمار (شاهد)، درون گلدان‌های کوچک حاوی پرلایت کشت و پس از ۷۲ ساعت بذور شروع به جوانه‌زنی نمودند. گلدان‌ها به‌مدت یک هفته با آب مقطر آبیاری و به‌مدت سه هفته با محلول غذایی هوگلند تغذیه شدند. پس از ظهور ۴ برگ اصلی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های مشبک منتقل گردیدند، سپس در محلول غذایی هوگلند (Hoagland & Arnon, 1950) به‌صورت شناور قرار گرفتند (جدول ۲). این آزمایش متشکل از ۶ مخزن بسته و مستقل به ابعاد ۹۰×۴۰×۲۵ سانتی‌متر و به‌طور میانگین دارای ۶۳ لیتر محلول غذایی بود. در هر مخزن دو پمپ هوا با قدرت ۸ لیتر در دقیقه برای هوادهی کافی و هم زدن محلول غذایی تعبیه شد. pH و هدایت الکتریکی یک روز در میان اندازه‌گیری و به‌ترتیب ۰/۲± ۵/۸ و ۰/۲± ۲ دسی‌زیمنس بر متر در طول آزمایش به‌طور تقریبی حفظ شد.

صفات مورد ارزیابی

۴۰ روز پس از انتقال نشاء به مخزن‌های حاوی محلول غذایی، بوته‌ها برداشت و وزن تر بوته با ترازوی دیجیتال با دقت یک صدم اندازه‌گیری شد. تعداد برگ در هر بوته هنگام برداشت شمارش گردید.

محتوای کلروفیل‌ها و کاروتنوئید به روش آرنون (Arnon, 1967) اندازه‌گیری شد. میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۶۳، ۶۴۵، ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید و با استفاده از معادله‌های زیر بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر به‌ترتیب میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید محاسبه شدند. A میزان جذب در طول موج‌های مورد نظر، V حجم نهایی بر حسب میلی‌لیتر و W وزن نمونه بر حسب گرم است.

$$\text{Chlorophyll a (mg g}^{-1}\text{ FW)} = [12.7\,(A_{663}) - 2.69\,(A_{645})] \times V/\,(W\times1000)$$

$$\text{Chlorophyll b (mg g}^{-1}\text{ FW)} = [22.9\,(A_{645}) - 4.68\,(A_{663})] \times V/\,(W\times1000)$$

$$\text{Total Chlorophyll (mg g}^{-1}\text{ FW)} = [(20.2\,(A_{645}) + 8.02\,(A_{663})] \times V/\,(W\times1000)$$

$$\text{Carotenoids (mg g}^{-1}\text{ FW)} = [7.6(A_{480}) - 1.49(A_{510})] \times V/\,(W\times1000)$$

میزان آنتوسیانین برگ با روش واگنر (Wagner, 1979) اندازه‌گیری شد. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید. در این معادله (A) مقدار جذب، (Ɛ) ضریب خاموشی معادل ۳۳۰۰۰ مول بر سانتی‌متر، (b) عرض کوت و (c) مقدار آنتوسیانین را نشان می‌دهد.

$$A = \varepsilon bc$$

به‌منظور اندازه‌گیری غلظت آهن در اندام هوایی، ابتدا نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه خشک و پس از آن آسیاب شدند. آماده‌سازی عصاره به روش هضم تر انجام شد و غلظت آهن با استفاده از دستگاه جذب اتمی قرائت گردید. محتوای فنول کل برگ با معرف فولن-سیکالتو تعیین شد. جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت و با استفاده از منحنی استاندارد اسیدگالیک غلظت محتوای فنول کل محاسبه شد (Sonald & Laima, 1999). میزان فلاونوئید کل با استفاده از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم‌کلرید اندازه‌گیری شد. میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت و محتوای فلاونوئید نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین متانولی بدست آمد (Zhishen *et al*., 1999).

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 26.0، مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با نرم‌افزار GraphPad Prism 8.4.3 انجام شد.

1- Colony forming unit

نتایج و بحث

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). به‌طور کلی تیمارهای باکتریایی موجب افزایش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۱). بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در تیمار باکتری ترکیبی مشاهده شد. بیشترین محتوای کاروتنوئید با اعمال تیمارهای باکتری ترکیبی و باکتری پانتوآگلومرانس بدست آمد. کاربرد تیمار باکتری ترکیبی در شرایط آبکشت، موجب افزایش ۳۸۸/۲ درصد کلروفیل a، ۴۳۹/۸ درصد کلروفیل b، ۳۹۸/۳ درصد کلروفیل کل و ۲۴۶/۳ درصد محتوای کاروتنوئید، نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۱).

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱ و ۳)، افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و پارامترهای رشد با کاربرد باکتری‌های محرک رشد در گیاه کاهو در شرایط آبکشت می‌توان بیان داشت، باکتری‌های محرک رشد به‌دلیل تولید سیدروفورها موجب افزایش جذب آهن توسط ریشه شده و همچنین با افزایش فراهمی و انتقال نیتروژن، پتاسیم و فسفر، علاوه بر افزایش سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی، باعث افزایش فتوسنتز و تحریک رشد شده اند. افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی اعم از محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در گیاهان مختلف با کاربرد باکتری‌های محرک رشد در تحقیقات پیشین نیز گزارش شده است (Zeinali Bafghi *et al*., 2020; Turan *et al*., 2014). از طرفی مطالعات نشان داده است، کمبود مقدار آهن در گیاهان علاوه بر ایجاد کلروز و کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی، باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز و پراکسیداز می‌شود، زیرا ساختار این آنزیم‌ها دارای آهن پورفیرین می‌باشند (Esnaashari & Enteshari, 2018). کمبود آهن در گیاهان موجب کاهش سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل و برخی کاروتنوئیدها در برگ می‌گردد (Fathi amirkhiz *et al*., 2015). با توجه به نتایج بدست آمده در گیاهان شاهد می‌توان علت کاهش سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به گیاهانی که با باکتری‌های محرک رشد تلقیح یافته بودند، کاهش مقدار جذب آهن توسط گیاه بیان داشت. نتایج مشابهی در افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه کاهو با کاربرد باکتری‌های محرک رشد در شرایط کشت خاکی گزارش شده است (Biswas *et al*., 2013)، که نتایج پژوهش حاضر را تأیید می‌نماید.

جدول ۱- غلظت کاتیون‌ها و آنیون‌های آب مورد استفاده (میلی‌گرم در لیتر)

Table 1- The concentration of cations and anions of the used water (mg.l-1)

pH	EC (dS.m-1)	منیزیم Magnesium	نیترات Nitrates	بی کربنات HCO3-	کلریدها Chlorides	سولفات‌ها SO42-	کلسیم Calcium	آهن Fe	پتاسیم Potassium	سدیم Sodium
7.2	0.18	22.5	2.4	12	4.2	88.3	0.99	0.09	0.1	1.3

جدول ۲- ترکیب یونی محلول غذایی مورد استفاده (میلی‌گرم در لیتر)

Table 2- The ionic composition of the studied nutrient solution (mg.l-1)

NO_3^-	SO_4^{-2}	$H_2PO_4^-$	K^+	Ca^{+2}	Mg^{+2}	NH_4^+
651	147	73.5	175.5	120	36	13.5

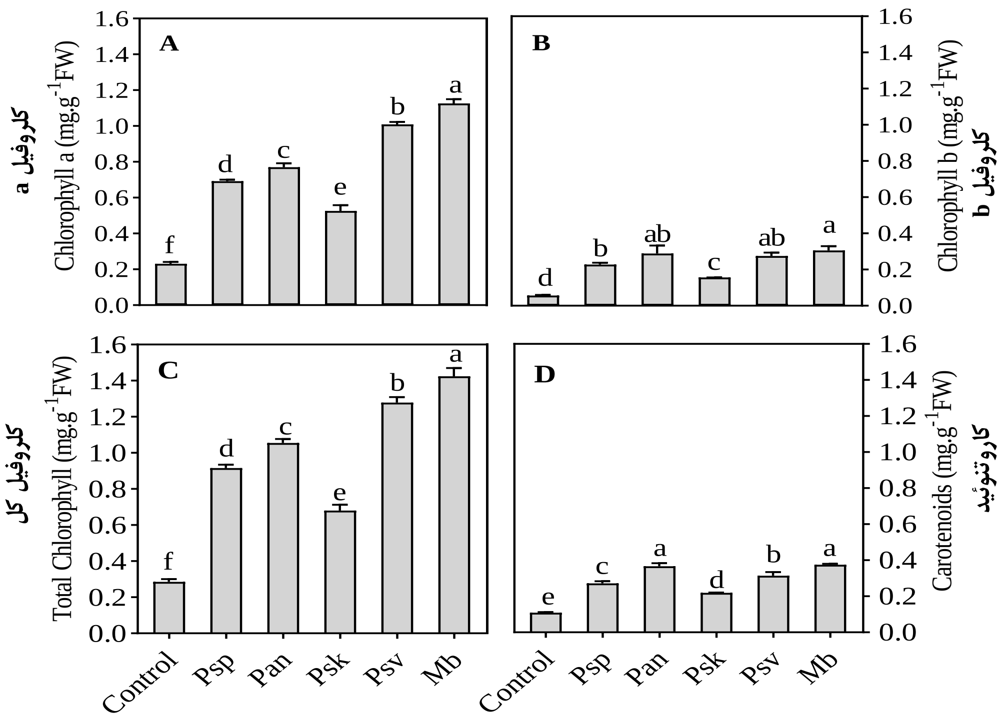
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در کاهو رقم 'New Red Fire'

Table 3- ANOVA for the effect of plant growth promoting rhizobacteria application on the photosynthetic pigments of lettuce cv. 'New Red Fire'

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares			
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoids
تیمار Treatment	5	0.31**	0.02**	0.51**	0.03**
خطا Error	12	0.001	0.001	0.002	0.000
ضریب تغییرات C.V (%)	-	9.96	10.31	9.81	8.23

**: معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

**: Significance at the 1% of probability level



شکل ۱- اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر رنگیزه‌های فتوسنتزی

کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B)، کلروفیل کل (C) و کاروتنوئید (D) در کاهو رقم 'New Red Fire'. Psp: *سودوموناس پوتیدا*، Pan: *پانتوآگلومرانس*، Psk: *سودوموناس کورینسیس*، Psv: *سودوموناس ونکورنسیس*، Mb: *سودوموناس کورینسیس* + *سودوموناس ونکورنسیس* + *سودوموناس پوتیدا* + *پانتوآگلومرانس*.

Figure 1- The effect of plant growth promoting rhizobacteria application on the photosynthetic pigments

Chlorophyll a (A), Chlorophyll b (B), Total chlorophyll (C), and Carotenoids (D) of lettuce cv. 'New Red Fire'. Psp: *Ps. putida*, Pan: *Pantoea agglomerans*, Psk: *Ps. koreensis*, Psv: *Ps. vancouverensis*, Mb: *Ps. putida* + *Pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*. (DMRT, $p \leq 0.05$)

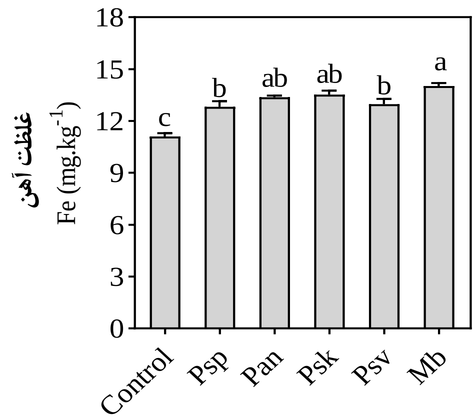
غلظت آهن در اندام هوایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر غلظت آهن در اندام هوایی، در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). به‌طور کلی کاربرد باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت موجب افزایش معنی‌دار غلظت آهن نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۲). حداکثر غلظت آهن در اندام هوایی با کاربرد تیمار باکتری ترکیبی حاصل شد که نسبت به گیاهان شاهد، ۲۶/۲ درصد افزایش غلظت آهن در اندام هوایی بدست آمد. کمترین مقدار غلظت آهن در گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۲). باکتری‌های محرک رشد با تولید سیدروفورها موجب کلات کردن آهن و ورود آن به داخل سلول‌های گیاه میزبان از طریق ترکیبات آلی با وزن مولکولی پایین و لیگاندهای شیمیایی با میل اختصاصی و ترکیبی بالا برای پیوند شدن با آهن III می‌شوند (Cézard *et al.*, 2015 Cunrth *et al.*, 2015;). افزایش جذب آهن با کاربرد باکتری باسیلوس در گیاه بادام‌زمینی (Liu *et al.*, 2017)، باکتری *Providencia* sp. در گیاه گندم (Rana *et al.*, 2012)، آنتروباکتر در گیاه سویا (Ramesh *et al.*, 2014)، باکتری سودوموناس در گیاه عدس (Mishra *et al.*, 2011) و گیاه ذرت (Alipour & Sobhanipour, 2012) گزارش شده است. همسو با نتایج بدست آمده، قدمخانی و همکاران (Ghadamkhani *et al.*, 2017) بیان کردند بیشترین مقدار آهن قابل جذب در گیاه گندم با کاربرد ترکیبی باکتری‌های محرک رشد حاصل شد، که نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر را تأیید می‌نماید.

وزن تر بوته و تعداد برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر وزن تر بوته در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). به‌طور کلی اعمال تیمارهای باکتریایی در شرایط آبکشت موجب افزایش معنی‌دار وزن تر بوته نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۳). حداکثر وزن تر بوته با کاربرد تیمار باکتری ترکیبی (افزایش ۴۲/۶ درصد) نسبت به گیاهان شاهد بدست آمد، کمترین وزن تر بوته در گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۳).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر میزان تعداد برگ اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۴). بیشترین تعداد برگ در بوته با کاربرد تیمار باکتری ترکیبی حاصل شد که نسبت به گیاهان شاهد ۲۲/۲ درصد، تعداد برگ در بوته افزایش یافت (شکل ۳). باکتری‌های محرک رشد از طریق سنتز اسیدهای آلی و کاهش pH، موجب افزایش جذب عناصر غذایی و همچنین با افزایش تولید هورمون‌های محرک رشد از جمله ایندول استیک اسید و جیبرلین موجب گسترش سیستم ریشه‌ای و با محدودیت در جذب کلر و سدیم، رشد گیاه میزبان را بهبود می‌بخشند (Erturk *et al*., 2011; Tsavkelova *et al*., 2005). با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها و افزایش پارامترهای رشد از جمله افزایش وزن تر بوته و تعداد برگ با کاربرد تیمارهای باکتریایی در شرایط آبکشت می‌توان بیان داشت؛ باکتری‌های مورد آزمایش با افزایش معنی‌دار سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ موجب افزایش فرآیند فتوسنتز و سوخت و ساز در گیاه میزبان و همچنین موجب تحریک رشد، افزایش تقسیم سلولی و پارامترهای رشد شده است. افزایش معنی‌دار وزن تر بخش هوایی گیاه کلم با کاربرد باکتری‌های محرک رشد (Abdollahi *et al*., 2020)، تأثیر معنی‌دار بر عملکرد وزن تر و خشک، غلظت روی و آهن بخش هوایی گیاه اسفناج با تلقیح باکتری‌های سودوموناس (Bolhasani *et al*., 2020) در تحقیقات پیشین نیز گزارش شده است، که نتایج پژوهش حاضر را تأیید می‌نماید.



شکل ۲- اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر غلظت آهن در اندام هوایی کاهو رقم 'New Red Fire'

Psp: *سودوموناس‌پوتیدا*، Pan: *پانتوآگلومرانس*، Psk: *سودوموناس‌کورینسیس*، Psv: *سودوموناس‌ونکورنسیس*، Mb: *سودوموناس‌کورینسیس* + *سودوموناس‌ونکورنسیس* + *سودوموناس‌پوتیدا* + *پانتوآگلومرانس*.

Figure 2- The effect of plant growth promoting rhizobacteria application on Fe concentration in aerial organs of lettuce cv. 'New Red Fire'

Psp: *Ps. putida*, Pan: *pantoea agglomerans*, Psk: *Ps. koreensis*, Psv: *Ps. vancouverensis*, Mb: *Ps. putida* + *pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*. (DMRT, $p\leq0.05$)

جدول ٤- تجزیه واریانس اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر برخی صفات فیزیولوژیکی و موفولوژیکی در کاهو رقم 'New Red Fire'

Table 4- ANOVA for the effect of plant growth promoting rhizobacteria application on some physiological and morphological traits of lettuce cv. 'New Red Fire'

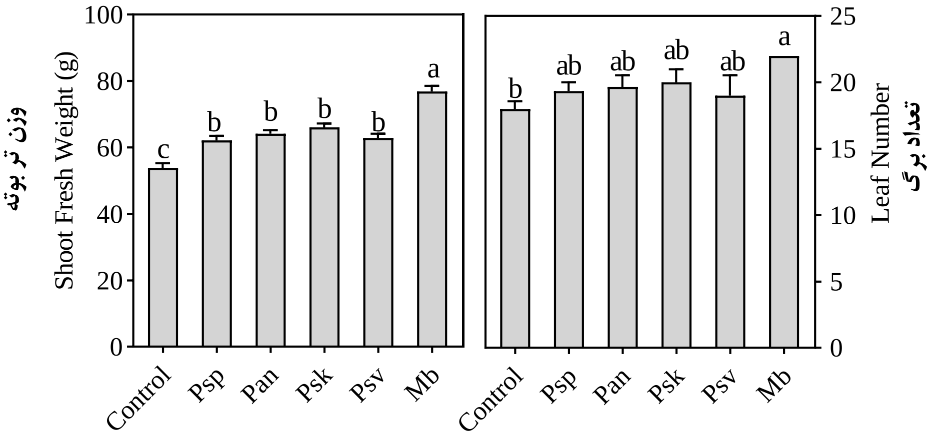
منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean of squares					
		آهن Fe	آنتوسیانین Anthocyanin	وزن تر بوته Shoot fresh weight	تعداد برگ Leaf number	فنول کل Total phenol	فلاونوئید کل flavonoids Total
تیمار Treatment	5	3.05**	185.42**	166.06**	5.33^{ns}	61637.42**	4723.65**
خطا Error	12	0.17	0.46	5.35	2.44	130.33	16.39
ضریب تغییرات C.V (%)	-	1.83	14.78	2.65	2.17	13.08	6.73

ns، **: به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

ns, ** : Non-significant and significant at the 1% of probability level, respectively.

محتوای فنول و فلاونوئید کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر محتوای فنول و فلاونوئید کل در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). به‌طور کلی کاربرد باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت موجب کاهش معنی‌دار محتوای فنول و فلاونوئید کل نسبت به گیاهان شاهد شد، بیشترین مقدار محتوای فنول و فلاونوئید کل در گیاهان شاهد و کمترین مقدار محتوای فنول و فلاونوئید کل با اعمال باکتری *سودوموناس ونکورنسیس* حاصل شد (شکل ۴).

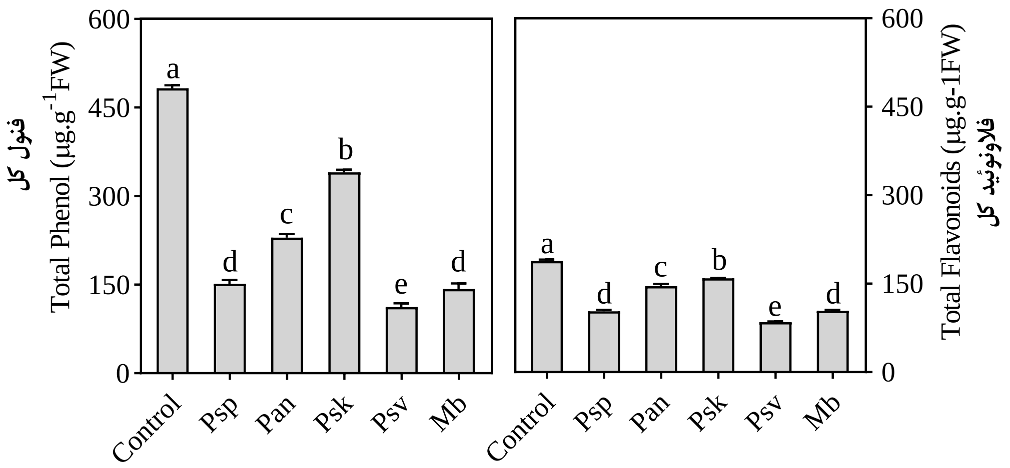


شکل ۳- اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر وزن تر بوته و تعداد برگ در کاهو رقم 'New Red Fire'

Psp: *سودوموناس‌پوتیدا*، Pan: *پانتوآگلومرانس*، Psk: *سودوموناس‌کورینسیس*، Psv: *سودوموناس‌ونکورنسیس*، Mb: *سودوموناس‌کورینسیس* + *سودوموناس‌ونکورنسیس* + *سودوموناس‌پوتیدا* + *پانتوآگلومرانس*.

Figure 3- The effect of plant growth promoting rhizobacteria application on the shoot fresh weight and leaf number of lettuce cv. 'New Red Fire'

Psp: *Ps. putida*, Pan: *pantoea agglomerans*, Psk: *Ps. koreensis*, Psv: *Ps. vancouverensis*, Mb: *Ps. putida* + *pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*. (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ٤- اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر محتوای فنول کل و فلاونوئید کل در کاهو رقم 'New Red Fire'

Psp: *سودوموناس‌پوتیدا*، Pan: *پانتوآگلومرانس*، Psk: *سودوموناس‌کورینسیس*، Psv: *سودوموناس‌ونکورنسیس*، Mb: *سودوموناس‌کورینسیس* + *سودوموناس‌ونکورنسیس* + *سودوموناس‌پوتیدا* + *پانتوآگلومرانس*.

Figure 4- The effect of plant growth promoting rhizobacteria application on total phenol and total flavonoids content of lettuce cv. 'New Red Fire'

Psp: *Ps. putida*, Pan: *pantoea agglomerans*, Psk: *Ps. koreensis*, Psv: *Ps. vancouverensis*, Mb: *Ps. putida* + *pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*. (DMRT, $p \leq 0.05$)

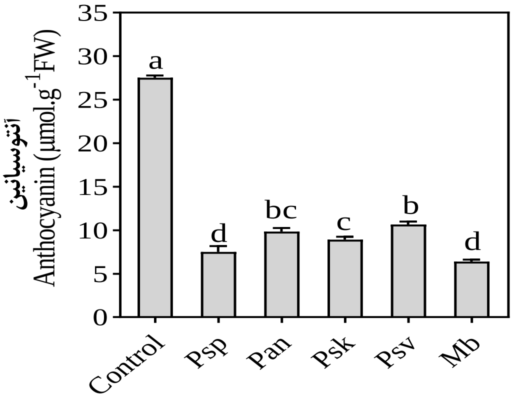
ترکیبات فنولی از جمله ترکیبات آلی در گیاهان هستند که به‌دلیل وزن مولکولی کم و ساختار محلول در آب، موجب تنظیم فشار اسمزی در تنش‌ها می‌گردند. همچنین دارای توانایی پاکسازی رادیکال‌های آزاد به‌طور ویژه‌ای می‌باشند (Chishaki & Horiguchi, 1997). مطالعات پیشین نشان داده است، در شرایط کاهش جذب آهن برای گیاهان، فعالیت آنزیم‌های گایاکول‌پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز در اندام هوایی و ریشه کاهش و میزان پراکسیداسیون لیپیدها در بخش هوایی و هیدروژن پراکسید در ریشه افزایش می‌یابد (Sun *et al*., 2016; Kiani Chalmardi *et al*., 2012). بر این اساس شاید بتوان گفت گیاهان شاهد به دلیل کاهش جذب آهن نسبت به گیاهان تحت تیمارهای باکتریایی در شرایط کمبود جذب آهن بوده‌اند و کمبود آهن باعث ایجاد اختلال در ساختار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده است، به همین علت ترکیبات فنولی برای جبران کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته‌اند. آنزیم‌ها در ساختار خود دارای آهن پورفیرین می‌باشند و به عنوان گروه‌های پروستتیک، نقش بسیار مهمی را در متابولیسم‌های گیاهی ایفا می‌نمایند (Bannister *et al*., 1987). افزایش سنتز ترکیبات فنولیک از نشانه‌های انعطاف‌پذیری متابولیکی گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی و تغذیه‌ای می‌باشد (Ferreira *et al*., 2015; Kallala *et al*., 2018). قشلاقی و همکاران (Gheshlaghi *et al*., 2019) گزارش کردند محلول‌پاشی آهن در گیاه یونجه موجب کاهش معنی‌دار محتوای فنول کل و فلاونوئید کل گردید. با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش و همسویی آن با تحقیقات پیشین می‌توان بیان داشت مقدار آهن قابل جذب در گیاه، به‌طور معنی‌داری بر محتوای ترکیبات فنولیک اثر دارد.

محتوای آنتوسیانین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تیمار با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت بر محتوای آنتوسیانین در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۴). به‌طور کلی کاربرد تیمارهای باکتریایی در شرایط آبکشت موجب کاهش معنی‌دار محتوای آنتوسیانین برگ نسبت به گیاهان شاهد گردید و بیشترین مقدار محتوای آنتوسیانین برگ (۲۷/۵۴μmol g^{-1}FW) در گیاهان شاهد حاصل شد (شکل ۵). آنتوسیانین‌ها از جمله ترکیبات فنولی در گیاهان می‌باشند (Khoo *et al*., 2017). محققین تجمع آنتوسیانین‌ها را در گیاهان بیشتر در شرایط کاهش جذب نیتروژن گزارش کرده‌اند و علت را جایگزینی مصرف کربوهیدرات‌ها جهت سنتز رنگیزه‌های آنتوسیانین به جای متابولیسم نیتروژن بیان داشته‌اند (Taiz & Zeiger, 2010). کاهش جذب عناصر غذایی در محیط ریشه موجب افزایش ترکیبات فنولی در گیاهان می‌گردد (Widodo *et al*., 2010). تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد، موجب افزایش جذب عناصر غذایی توسط ریشه و بهبود دسترسی به عناصر غذایی توسط گیاه میزبان می‌شود. علاوه بر این، باکتری‌های محرک رشد با تولید سیدروفورها موجب افزایش جذب و انتقال عنصر آهن در گیاهان می‌گردد. آهن از جمله ترکیبات فعالی می‌باشد که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان از قبیل تنفس میتوکندریایی، فتوسنتز، بیوسنتز هورمون‌ها، آسیمیلاسیون عنصر نیتروژن، حفاظت اسمزی و همچنین از بین بردن انواع اکسیژن فعال تأثیر می‌گذارد (Hansch & Mendel, 2009). همسو با نتایج بدست آمده در این پژوهش، افزایش سنتز ترکیبات فنولی در شرایط کمبود آهن در گیاه سورگوم نیز گزارش شده است (Saboora & Behjati, 2017)، که نتایج بدست آمده در این تحقیق از جمله سنتز بیشتر ترکیبات فنولی و محتوای آنتوسیانین در گیاهان شاهد را تأیید می‌نماید.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، کاربرد باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت از یک سو موجب افزایش معنی‌دار جذب آهن، سنتز حداکثری رنگیزه‌های فتوسنتزی و متعاقبا تحریک رشد و افزایش پارامترهای رشد و عملکرد از جمله وزن تر بوته و تعداد برگ در گیاه کاهو رقم 'New Red Fire' گردید، از سوی دیگر در این آزمایش با توجه به تسهیل شرایط رشد و افزایش جذب عناصر غذایی برای گیاهان میزبان در اثر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد در شرایط آبکشت، سنتز ترکیبات فنولیکی از جمله محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند. لذا بر اساس نتایج به‌دست آمده می‌توان از باکتری‌های محرک رشد در گیاه کاهو رقم 'New Red Fire' جهت افزایش پارامترهای رشد، عملکرد و غلظت آهن در شرایط آبکشت استفاده نمود. البته اگر بتوان با اعمال راهکارهایی به‌صورت همزمان کیفیت تغذیه‌ای کاهو به‌ویژه محتوای ترکیبات فنولیکی و فلاونوئیدی گیاه را نیز افزایش داد بسیار مطلوب‌تر خواهد بود. در کل انجام تحقیقات بیشتر برای یافتن راهکارهای زیستی به‌منظور افزایش عملکرد و کیفیت تغذیه‌ای کاهو و سایر گیاهان برای کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی و استفاده بهینه منابع آبی در شرایط آبکشت، پیشنهاد می‌گردد.



شکل ۵- اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد بر محتوای آنتوسیانین در کاهو رقم 'New Red Fire'

Psp: *سودوموناس‌پوتیدا*، Pan: *پانتوآگلومرانس*، Psk: *سودوموناس‌کورینسیس*، Psv: *سودوموناس‌ونکورنسیس*، Mb: *سودوموناس‌کورینسیس* + *سودوموناس‌ونکورنسیس* + *سودوموناس‌پوتیدا* + *پانتوآگلومرانس*.

Figure 5- The effect of plant growth promoting rhizobacteria application on anthocyanin content of lettuce cv. 'New Red Fire'

Psp: *Ps. putida*, Pan: *pantoea agglomerans*, Psk: *Ps. koreensis*, Psv: *Ps. vancouverensis*, Mb: *Ps. putida* + *pantoea agglomerans* + *Ps. koreensis* + *Ps. vancouverensis*. (DMRT, $p \leq 0.05$)

سپاسگزاری

بدین وسیله از حمایت‌های گروه علوم باغبانی، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان و همچنین از کارشناس واحد تحقیق و توسعه شرکت زیست فناور سبز جناب آقای مهندس پژمان قاسمی‌نژاد جهت همکاری‌های لازم در انجام این پژوهش، قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Abdollahi, S., Golchin, A., & Shahryari, F. (2020). Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on organic acids production and concentration of lead and cadmium in cabbage. *Journal of Water and Soil*, *34*(3), 737-754. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jsw.v34i3.85068
2. Alipour, Z.T., & Sobhanipour, A. (2012). The effect of *Thiobacillus* and *Pseudomonas fluorescent* inoculation on maize growth, and Fe uptake. *Annals of Biological Research*, *3*(3), 1661-1666.
3. Arnon, A.N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, *23*, 112-21.
4. Bannister, J.V., Bannister, W.H., & Rotills, G. (1987). Aspects of the structure, function and application of superoxide dismutase. *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, *22*, 111-180. https://doi.org/10.3109/10409238709083738
5. Biswas, J.C., Ladha, J.K., Dazzo, F.B., Yanni, Y.G., & Rolfe, B.G. (2013). Rhizobial inoculation influences seedling vigor and yield of rice. *Agronomy Journal*, *92*, 880-886. https://doi.org/10.2134/agronj2000.925880x
6. Bolhasani, Z., Ronaghi, A.M., Ghasemi, R., & Zarei, M. (2020). Influence of growth promoting rhizobacteria and organic matter on the concentration of micronutrients of spinach in a calcareous soil affected by salinity. *Iranian Journal of Soil Research*, *34*(1), 81-94. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/ijsr.2020.122143
7. Cézard, C., Farvacques, N., & Sonnet, P. (2015). Chemistry and biology of pyoverdines, Pseudomonas primary siderophores. *Current Medicinal Chemistry*, *22*(2), 165-186. https://doi.org/10.2174/0929867321666141011194624
8. Chishaki, N., & Horiguchi, T. (1997). Responses of secondary metabolism to nutrient deficiency. *Soil Science and Plant Nutrition*, *43*, 987-991.
9. Cunrath, O., Gasser, V., Hoegy, F., Reimmann, C., Guillon, L., & Schalk, I.J. (2015). A cell biological view of the siderophore pyochelin iron uptake pathway in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environmental Microbiology*, *17*(1), 171-185. https://doi.org/10.1111/1462-2920.12544
10. Ding, J., Zhang, Y., Zhang, H., Li, X., Sun, Z., Liao, Y., Xia, X., Zhou, Y., Shi, K., & Yu, J. (2014). Effects of *Fusarium oxysporum* on rhizosphere microbial communities of two cucumber genotypes with contrasting Fusarium wilt resistance under hydroponic condition. *European Journal of Plant Pathology*, *140*(4), 643-653. https://doi.org/10.1007/s10658-014-0494-6
11. Erturk, Y., Cakmakci, R., Duyar, O., & Turan, M. (2011). The effects of plant growth promoting rhizibacteria on vegetative growth and leaf nutrient contents of hazelnut seedling (Turkish hazelnut CV. Tombul and Sivir). *International Journal of Soil Science*, *6*(3), 188-198. https://doi.org/10.3923/ijss.2011.188.198

12. Esnaashari, E., & Enteshari, S. (2018). Effects of iron chloride, iron chelate and nano-iron on enzymatic and non-enzymatic antioxidant mechanisms in melissa officinalis under aluminum treatment. *Journal of Plant Process and Function*, *7*(23), 193-204. (In Persian with English abstract)
13. Esitken, A., Yildiz, H.E., Ercisli, S., Donmez, M.F., Turan, M., & Gunes, A. (2010). Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae*, *124*, 62-66. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.12.012
14. Fathi Amirkhiz, K., Amini Dehaghi, M., & Heshmati, S. (2015). Study the effect of iron chelate on Chlorophyll content, photochemical efficiency and some biochemical traits in Safflower under deficit irrigation condition. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *46*(1), 137-145. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijfcs.2015.54053
15. Ferreira, J., Cornacchione, M., Liu, X., & Suarez, D. (2015). Nutrient composition, forage parameters, and antioxidant capacity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) in response to saline irrigation water. *Journal of Agriculture*, *5*, 577-597. https://doi.org/10.3390/agriculture5030577
16. Ghadamkhani, A., Enayatizamir, N., & Norouzi Masir, M. (2017). Effect of plant growth promoting bacteria on soil available iron and its uptake by wheat. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, *8*(2), 53-64. (In Persian)
17. Gheshlaghi, Z., Khorassani, R., Kafi, M., & Fotovat, A. (2019). Comparison of foliar and soil Fe fertilization on medicago scutellata physiological-biochemical characteristics and active iron in soils containing different amounts of lime. *Journal of Crop Production and Processing*, *9*(4), 113-128. (In Persian)
18. Gupta, A., Gopal, M., Thomas, G.V., Manikandan, V., Gajewski, J., Thomas, G., Seshagiri, S., Schuster, S.C., Rajesh, P., & Gupta, R. (2014). Whole genome sequencing and analysis of plant growth promoting bacteria isolated from the rhizosphere of plantation crops coconut, cocoa and arecanut. *PLoS One*, *9*(8). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104259
19. Hansch, R., & Mendel, R.R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, and Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, *12*, 259-266. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.05.006
20. Hoagland, D.R., & Arnon, D.I. (1950). The water culture method for growing plants without soil. *Circular*, *347*, 39.
21. Kallala, N., Wissal, M., Jelali, K., Kais, Z., & Mhadhbi, H. (2018). Inoculation with efficient nitrogen fixing and indoleacetic acid producing bacterial microsymbiont enhance tolerance of the model legume *Medicago truncatula* to iron deficiency. *Biomedicine Research International*, 1-14. https://doi.org/10.1155%2F2018%2F9134716
22. Khoo, H., Azlan, A., Tang, S., & Lim, S. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins colored pigments as food, pharmaceutical ingredients and the potential health benefits. *Food and Nutrition Research*, *61*(1), 1361779. https://doi.org/10.1080%2F16546628.2017.1361779
23. Kiani Chalmardi, Z., Abdolzadeh, A., & Sadeghipour, H.R. (2012). Evaluation of the effects of silicon nutrition on alleviation of iron deficiency in rice plants (*Oriza sativa* L.) with emphasis on growth and antioxidant enzymes activity. *Journal of Plant Biology*, *4*(14), 61-74. (In Persian with English abstract)
24. Kim, M.J., Moon, Y., Kopsell, D.A., Park, S., Tou, J.C., & Waterland, N.L. (2016). Nutritional value of Crisphead 'Iceberg' and Romaine lettuces (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Agricultural Science*, *8*(11), 1. https://doi.org/10.5539/jas.v8n11p1
25. Kobayashi, T., & Nishizawa, N.K. (2012). Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annual Review of Plant Biology*, *63*, 131-152. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105522
26. Kumar, P.G., Suseelendra, D., Amalraj, E.L.D., & Reddy, G. (2015). Isolation of fluorescent *Pseudomonas* spp. from diverse agro-ecosystems of India and characterization of their PGPR traits. *Journal of Bacteriology*, *5*, 13-24.
27. Lee, S., Ahn, I., Sim, S., Lee, S., Seo, M., Kim, S., Park, S., Lee, Y., & Kang, S. (2010). *Pseudomonas* sp. LSW25R, antagonistic to plant pathogens, promoted plant growth, and reduced blossom-end rot of tomato fruits in a hydroponic system. *European Journal* of *Plant Pathology*, *126*(1), 1-11. https://doi.org/10.1007/s10658-009-9514-3
28. Liu, D., Yang, Q., Ge, K., Hu, X., Qi, G., Du, B., Liu, K., & Ding, Y. (2017). Promotion of iron nutrition and growth on peanut by *Paenibacillus illinoisensis* and *Bacillus* sp. strains in calcareous soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1-15. https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.02.006
29. Lommen, W.J.M. (2007). The canon of potato science: 27. Hydroponics. *European Potato Journal*, *50*, 3-4.
30. Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review* of *Microbiology-Nature*, *63*(1).
31. Mahfouz, S.A., & Sharaf- Eldin, A. (2007). Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics*, *2*, 361-366. https://doi.org/10.1055/s-2007-987419
32. Manzocco, L., Foschia, M., Tomasi, N., Maifreni, M., Costa, L.D., Marino, M., Cortella, G., & Cesco, S. (2011). Influence of hydroponic and soil cultivation on quality and shelf life of ready-to-eat lamb's lettuce (*Valerianella locusta* L. Laterr). *Journal* of the *Science* of *Food* and *Agriculture*, *91*, 1373-1380. https://doi.org/10.1002/jsfa.4313

33. Mishra, P.K., Bisht, S.C., Ruwari, P., Joshi, G.K., Singh, G., Bisht, J.K., & Bhatt, J.C. (2011). Bioassociative effect of cold tolerant *Pseudomonas* spp. and *Rhizobium leguminosarum*-PR1 on iron acquisition, nutrient uptake and growth of lentil (*Lens culinaris* L.). *European Journal of Soil Biology*, *47*, 35-43. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.11.005
34. Nagajyoti, P.C., Lee, K.D., & Sreekanth, T.V.M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, *8*(3), 199-216. https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8
35. Rahi, A. (2016). Effect of supernitroplas and biosuprophosphate biofertilizers on morphological and physiological traits of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Science and Technology of Greenhouse Cultivation*, *7*(26), 135-125. https://doi.org/10.18869/acadpub.ejgcst.7.2.125
36. Rana, A., Saharan, B., Nain, L., Prasanna, R., & Shivay, Y.S. (2012). Enhancing micronutrient uptake and yield of wheat through bacterial PGPR consortia. *Soil science and Plant Nutrition*, *58*(5), 573-582. https://doi.org/10.1080/00380768.2012.716750
37. Ramesh, A., Sharma, S.K., Sharma, M.P., Yadav, N., & Joshi, O.P. (2014). Plant growth-promoting traits in *Enterobacter cloacae* subsp. *dissolvens* MDSR9 isolated from soybean rhizosphere and its impact on growth and nutrition of soybean and wheat upon inoculation. *Agricultural Research*, *3*(1), 53-66.
38. Saboora, A., & Behjati, R. (2017). The effect of boron and iron deficiency on the contents of photosynthetic pigments, carbohydrates and phenolic compounds in two cultivars of *Sorghum bicolor* L. *Iranian Journal of Plant Biology*, *9*(3), 18-38. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22108/ijpb.2017.103432.1015
39. Sharma, A., Shankhdar, D., & Shankhdhar, S.C. (2013). Enhancing grain iron content of rice by the application of plant growth promoting rhizobacteria. *Plant and Soil Environment*, *59*, 89-94. https://doi.org/10.17221/683/2012-PSE
40. Singh, J.S., Pandey, V.C., & Singh, D.P. (2011). Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *140*, 339-353. https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.01.017
41. Sonald, S.F., & Laima, S.K. (1999). Phenolics and cold tolerance of brassica napus. *Journal of Plant Agriculture*, 1-5.
42. Stegelmeier, A.A., Rose, D.M., Joris, B.R., & Glick, B.R. (2022). The use of PGPB to promote plant hydroponic growth. *Plants*, *11*, 2783. https://doi.org/10.3390/plants11202783
43. Sun, C., Wu, T., Zhai, L., Li, D., Zhang, X., Xu, X., Ma, H., Wang, Y., & Han, Z. (2016). Reactive oxygen species function to mediate the Fe deficiency response in a Fe-efficient apple genotype: an early response mechanism for enhancing reactive oxygen production. *Frontier in Plant Science*, *7*, 1726. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01726
44. Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology* (5th Ed.). Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
45. Tsavkelova, E.A., Cherdyntseva, T.A., & Netrusoe, A.I. (2005). Auxin production by bacteria associated with orchod roots. *Microbiology*, *74*, 233-273.
46. Turan, M., Ekinci, M., Yildirim, E., Güneş, A., Karagöz, K., Kotan, R., & Dursun, A. (2014). Plant growth-promoting rhizobacteria improved growth, nutrient, and hormone content of cabbage (*Brassica oleracea*) seedlings. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *38*, 327-333. https://doi.org/10.3906/tar-1308-62
47. Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology*, *64*, 88-93. https://doi.org/10.1104%2Fpp.64.1.88
48. Widodo, B., Broadley, M.R., & Rose, T. (2010). Response to zinc deficiency of two lines with contrasting tolerance is determined by root growth maintenance and organic acid exudation rates and not by zinc-transporter activity. *New Phytologist*, *186*, 400-414. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03177.x
49. Yasufumi, U., & Kaneaki, H. (2003). Selection of PGPR which promotes the growth of spinach. *Japanese Journal of Soil Science* and *Plant Nutrition*, *74*, 157-162. https://doi.org/10.20710/dojo.74.2_157
50. Zandi, P., & Basu, S.K. (2016). Role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) as bioFertilizers in stabilizing agricultural ecosystems. *Organic Farming for Sustainable Agriculture*, 71-87.
51. Zeinali Bafghi, M., Gholamnezhad, J., Esmaeilzadeh-Hosseini, A.R., Shirmardi, M., & Jafari, A. (2020). Influence of gowth promoting bacteria on gowth and physiological characters of pistachio in saline soils. *Horticultural Plants Nutriton*, *2*(2), 107-129. (In Persian with English abstract)
52. Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*, 555-559. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2